

ヒト正常子宮内膜間質細胞の解析 : ^3H-thymidine オートラジオグラフィーと免疫組織 化学の併用によるヒト正常子宮内膜構成細胞の動態 とその同定

著者	川浪 大郎
発行年	1987-03-24
URL	http://hdl.handle.net/10422/1618

氏名・（本籍）	かわ なみ だい ろう 川 浪 大 郎 （佐賀県）
学 位 の 種 類	医学博士
学 位 記 番 号	医博第28号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	昭和62年3月24日
学 位 論 文 題 目	ヒト正常子宮内膜間質細胞の解析 — ³ H-thymidine オートラジオグラフィーと免疫組織化学の 併用によるヒト正常子宮内膜構成細胞の動態とその同定—
審 査 委 員	
	主査 教授 竹 岡 成
	副査 教授 吉 田 吉 信
	副査 教授 越 智 淳 三

論 文 内 容 の 要 旨

〔研究の目的〕

性成熟期におけるヒト子宮内膜間質を構成する各種細胞の同定と、それらの性周期内細胞動態を明らかにすることを目的とした。

〔研究方法〕

過去5年以上にわたり整調な月経周期をもつ性成熟婦人の手術摘出子宮内膜を用いた。増殖期としては月経周期7日から11日までのもの5例、分泌期中・後期としての月経周期23日から27日目が6例、さらに妊娠6週から7週までの真脱落膜3例についても比較検討した。摘出子宮内膜は1 mm厚および1 mm幅の内膜全層にわたる直方体に細切し、先ず autoradiography の手法にて細胞増殖状態をみるため、³H-thymidine を Hanks 液に加え、1 μCi/ml に調整したうえ、37℃、CO₂ インキュベーターに1時間静置した。その後、Hanks 液にて洗浄し、Bouin 固定液で4時間固定、パラフィンにて包埋、2 μm 厚の切片を作製した。脱パラフィン後、組織内遊走細胞の膜抗原を検出するため、ウマ血清にて1時間反応後、第1抗体としてのマウスモノクローナル抗体 DAKO-LC(anti-leucocyte-common antigen)にて2時間反応、PH 7.4、0.05 M phosphate buffered saline で洗浄、次にビオチン化抗体で1時間反応、洗浄後、1% H₂O₂ 加 methanol にて15分間浸漬、洗浄、avidin-biotin-peroxidase complex で1時間反応、洗浄した。その後、Graham-Karnovsky の方法にて発色させた。次に NTB-2 乳剤を塗布し、暗箱にて4℃、5日間露出後、現象、定着させた。

この様にして作製した組織標本を顕鏡に供した。

〔結 果〕

増殖期子宮内膜間質では腺細胞同様、stromal fibroblast が ^3H -thymidine (3H-Tと略す)を取り込んでおり、盛んなDNA合成を示した。一方、分泌中・後期内膜間質では、3H-Tの取り込みはDAKO-LC 反応陽性細胞 (LC陽性細胞と略す)に認められたが、LC陰性であるfibroblastには3H-Tの取り込みは認められなかった。腺細胞にも認められなかった。また分泌期後期内膜間質に出現する核分裂像はLC陽性細胞に認められた。LC陽性細胞には細胞質にeosinやphloxine好性の顆粒をもつものが多く存在し、またこれらの細胞への3H-Tの取り込みも旺盛であった。妊娠初期子宮内膜脱落膜における間質構成細胞については、非妊時の分泌期後期の内膜間質と類似した所見を示した。

血管内皮細胞は全周期を通じ、また妊娠初期においても3H-Tの取り込みがみられた。

〔考 察〕

性成熟婦人子宮内膜構成細胞の分裂細胞数の消長に関しては過去多くの報告がある。しかしそれらはすべて、内膜間質についてはstromal mitosesとして一括して扱い、増殖期と分泌期後期に2つの分裂ピークをもつものとされてきた。またこの分裂細胞をstromal fibroblastであると記述した報告もあった。このことは内膜腺細胞が増殖期から排卵期にかけて分裂・増殖のピークをつくり、以後月経開始まで分裂像がみられないことと対照をなしていた。

また分泌期後期や妊娠初期に著増し、細胞質内に顆粒をもつ、いわゆるendometrial granulocyteの由来については、子宮内膜間質を構成するある共通の細胞から、一方は前脱落膜細胞、或いは脱落膜細胞へ、他方はこのendometrial granulocyteへと2方向へ分化するとの説(Dallenbach)が一般に認知されてきた。しかし、増殖期においてもendometrial granulocyteが極く少数ながら散見されることを考慮すると、その説には疑問の残るところであった。

本研究で明らかになった如くstromal mitosesは1つの性周期の間に2つの増加のピークをもっているが、排卵前の最初のピークはstromal fibroblast由来であり、排卵後の第2のピークはLC陽性細胞の増殖によるものであった。さらにこの細胞はendometrial-granulocyteそのものであり、その起源はLC陽性であるところから骨髓由来の遊走細胞に他ならないことが明らかになった。

〔結 論〕

性成熟期におけるヒト子宮内膜間質におけるDNA合成、および核分裂は、排卵前のestrogen血中濃度が高値の時期にはstromal fibroblastがなし、排卵後、estrogenの低下およびprogesteroneの分泌とともにしばらくはすべての細胞種において著しく低下してくる。その後、estrogen:progesteroneとも高値を示す分泌期中期を経て、分泌期後期から、さらに妊娠中にも白血球系と考えられる顆粒をもった細胞のDNA合成と核分裂像が著増してくる。この細胞はいわゆるendometrial granulocyteと考えられ、LC陽性の表面抗原を帯びていることから、骨髓由来の遊走細胞と考えられる。

血管内皮細胞は全周期で、また妊娠初期においてもDNA合成を示した。

学位論文審査の結果の要旨

ヒト子宮内膜のステロイドホルモンによる周期的変化は詳細に研究されており、現在では形態学的な日付診も可能である。増殖期には子宮内膜の腺細胞と間質細胞は増殖し、排卵後の分泌期前期には増殖は停止し、腺細胞と間質細胞は分泌期特有の変化を示す。分泌期後期には間質に再び核分裂像が現れる。後期のこの細胞増殖についてはこれは間質線維芽細胞の増殖であり、これから前脱落膜細胞と間質顆粒細胞が分化すると考えられて来た。しかし、この分化の方向付けは必ずしも確実な証明によるものではなかった。形態学的立場からは両種細胞が同一細胞種に由来することには疑がもたれる。著者は正常性周期婦人の手術摘出子宮の内膜を用い、 ^3H -サイミジンオートラジオグラフィー、抗白血球共通抗原モノクローナル抗体、および顆粒の染色〔フロキシン、エオジン、過ヨウ素酸-Schiff (PAS) 試薬〕を併用し、子宮内膜の細胞動態の観察と細胞同定を同一切片上で行い、この問題の解決を求めた。

実験結果を総括すると、DNA合成によって示される子宮内膜の細胞増殖は、排卵前の血中エストロゲン濃度の高い時期には腺細胞と間質線維芽細胞に見られ、排卵後エストロゲン値の低下及びプロゲステロンの分泌とともにすべての細胞種において増殖は低下する。その後エストロゲンとプロゲステロンの両者が高値を示す分泌期中期を経て分泌期後期に入ると白血球共通抗原をもつ細胞 (LC陽性細胞) に活発な増殖活動が見られた。この時期にはLC陰性の線維芽細胞には増殖は全く認められなかった。LC陽性細胞はエオジン好性、フロキシン好性、PAS反応陽性の顆粒をもつから間質顆粒細胞といえる。これから間質顆粒細胞はDallenbachの主張するごとく線維芽細胞由来の細胞ではなく、骨髓由来の細胞で、局所で増殖し間質顆粒細胞になったものであり、同時に前脱落膜細胞は線維芽細胞から増殖を伴わずに分化することが証明された。

以上、この研究の内容は性周期によるヒト子宮内膜の、とくに間質細胞の動態を明らかにし、性周期による内膜変化の解釈に新しい見解を加えたものであり、医学上意義あるものと認められる。